

ÜBER DIE WIRKUNG VON THEOPHYLLIN AUF DIE MARKIERBARKEIT
DES CELLULÄREN MYOKARDIALEN CALCIUMS MIT ^{45}Ca

Folker Heinrich Sausen

1973



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554427_0060

Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Mainz
(Komm. Direktor: Prof. Dr. E. Muscholl)

ÜBER DIE WIRKUNG VON THEOPHYLLIN AUF DIE MARKIERBARKEIT
DES CELLULÄREN MYOKARDIALEN CALCIUMS MIT ^{45}Ca

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Zahnheilkunde
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz,
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von
Folker Heinrich Sausen
aus Morbach

Mainz 1972

Fachbereichsdekan: Prof. Dr.rer.nat. U. Wollert
Referent: Prof. Dr.med. H. Scholz
Korreferent: Prof. Dr.rer.nat. U. Wollert
Tag der mündl. Prüfung: 26. September 1973

Gesamtherstellung:



DITTERS BÜRODIENST

6501 HEIDESHEIM/RHEIN · AM KAPELLCHEN 1
TELEFON 06132/5711



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. EINLEITUNG	1
B. METHODEN	
I. Allgemeines	
1. Präparate	4
2. Lösungen	6
3. Substanzen	6
II. Mechanogramme	6
III. Bestimmung der ^{45}Ca -Aufnahme und der Ca-Gesamtkonzentration	
1. ^{45}Ca -Aufnahme	7
2. Ca-Gesamtkonzentration	9
IV. Statistische Bearbeitung der Versuchsergebnisse	10
C. ERGEBNISSE	
I. Mechanogramme in Ca-armer Tyrode- lösung	11
II. ^{45}Ca -Aufnahme und Ca-Gesamtkon- zentration	14
D. DISKUSSION	21
E. ZUSAMMENFASSUNG	25
F. LITERATURVERZEICHNIS	27

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

$[Ca]_e$	: extracelluläre Calcium-Ionenkonzentration
$[Ca]_i$	: intracelluläre Calcium-Ionenkonzentration
$[Ca]_G$	: Calcium-Konzentration im Gewebe
MSV	: Meerschweinchenvornhof
ECR	: Extracellulärraum
SR	: Sarkoplasmatisches Retikulum
FG	: Feuchtgewicht
Dpm	: Zerfälle/Minute
RSA	: Relative spezifische Aktivität
min, msec	: Minute, Millisekunde
g, mg	: Gramm, Milligramm
M, mM	: Mol, Millimol im Zusammenhang mit Volumen- und Gewichtsangaben, sonst molar bzw. millimolar
l, ml	: Liter, Milliliter
Hz	: Hertz = Impulse/Sekunde
μA , nA	: Mikroäquivalent, Nanoäquivalent
mC	: Millicurie

A. EINLEITUNG

Für die Auslösung von Kontraktionen an Herz- und Skelettmuskel sind Ca-Ionen von entscheidender Bedeutung. Es besteht weitgehend Einigkeit darüber, daß es bei beiden Strukturen während der Erregung intracellulär zu einer Zunahme an freien Ca-Ionen ($[Ca]_i$) und zur Kontraktion kommt, wenn die intracelluläre Konzentration an ungebundenem Ca einen Wert von etwa 10^{-7} - 10^{-6} M überschreitet und zur Erschlaffung, wenn diese Konzentration wieder unterschritten wird (PORTZEHL u. Mitarb., 1964, 1969; HASSELBACH u. WEBER, 1965; SANDOW, 1965; LANGER, 1968; EBASHI u. ENDO, 1968). Die Zunahme an kontraktionswirksamen Ca-Ionen erfolgt beim Herzmuskel wahrscheinlich über einen anderen Mechanismus als beim Skelettmuskel. Bei der Herzmuskelzelle wird die $[Ca]_i$ während des Depolarisationsprozesses vermutlich dadurch gesteigert, daß in dieser Phase vermehrt Ca-Ionen aus dem Extracellulärraum in die Zelle einströmen. Im Gegensatz dazu bezieht der Skelettmuskel das für die Kontraktion notwendige Ca^{++} überwiegend aus intracellulären Strukturen (Lit. bei LÜTTGAU, 1965; NAYLER, 1967).

Methylxantnine wie Coffein oder Theophyllin verstärken sowohl am Herzen als auch am Skelettmuskel die Kontraktionskraft (Lit. s. NAYLER, 1967, 1968; SANDOW, 1964, 1965; ISAACSON u. SANDOW, 1967; KUKOVETZ u. PÜCH, 1969). In höheren Konzentrationen führen sie bei beiden Strukturen zu Kontrakturen (AXELSON u. THESLEFF, 1958; BIANCHI, 1961; FRANK, 1962; SUZUKI, 1962; FEINSTEIN, 1963; NAYLER, 1963; FUJINO u. FUJINO, 1964; ISAACSON u. SANDOW, 1967; PRICE u. NAYLER, 1967; LÜTTGAU u. OETLIKER, 1968; SCHOLZ, 1970; SCHOLZ u. DE YAZIKOF, 1971; BECHTOLD u. SCHOLZ, 1971).

Allgemein wird angenommen, daß die Methylxanthine in den Prozess der elektro-mechanischen Kopplung eingreifen (SANDOR, 1952) und dadurch positiv inotrop wirken, daß sie die Menge an freiem Ca in der Zelle gegenüber dem Normalzustand vergrößern (Lit. s. Übersicht NAYLER, 1967). Außerdem besteht Übereinstimmung darin, daß beim Auftreten von Kontrakturen diese Steigerung der $[Ca]_i$ in beiden Geweben dadurch zustande kommt, daß die Methylxanthine die Nettoaufnahme von Ca^{++} in das sarkoplasmatische Retikulum oder andere intracelluläre Bindungsstellen hemmen (CARSTEN u. MOMMAERTS, 1965; NAYLER u. HASKER, 1966; CARVALHO u. LEO, 1967; MIAZZONI, 1968; WEBER, 1968; WEBER u. HERZ, 1968; FUCHS, 1968; JOHANSON u. INESI, 1969; FRETORIUS et al., 1969).

Die Ursache für die Steigerung des $[Ca]_i$ unter dem Einfluß der genannten Pharmaka ist bei der ausschließlichen positiv inotropen Wirkung auf den Herzmuskel jedoch noch nicht geklärt. Im wesentlichen werden folgende Möglichkeiten diskutiert:

Die Methylxanthine bewirken (1.) einen vermehrten Ca^{++} -Einstrom aus dem ECR durch Erhöhung der Membranpermeabilität für Ca^{++} während der Erregung, (2.) eine erleichterte Freisetzung des gebundenen intracellulären Ca oder (3.) eine Nettoaufnahme von Ca^{++} in die Herzmuskelzelle.

Am Herzen wurde in letzter Zeit besonders Theophyllin untersucht. Die Hypothese, daß Theophyllin die Permeabilität der Zellmembran für Ca^{++} erhöht und dadurch positiv inotrop wirkt, wird durch mehrere Versuche unterstützt. So konnte durch Vorgabe von Mangan-Ionen, die den Ca^{++} -Einstrom während der Erregung hemmen (ROUGIER et al., 1969), die positiv inotrope Wirkung von Theophyllin abgeschwächt werden (MEINERTZ u. SCHOLZ, 1969). Weiterhin sprechen elektrophysiologische

Versuche dafür, daß Theophyllin parallel zur Steigerung der Kontraktionskraft den Ca^{++} -Einstrom aus dem ECR während des Aktionspotentials verstärkt (SCHOLZ, 1970, 1971 b). Eine ähnliche Wirkung am Herzen besitzt Adrenalin, das ebenfalls den elektrophysiologisch meßbaren Ca^{++} -Einstrom aus dem ECR während der Erregung verstärkt (REUTER, 1967; VASSORT et al., 1969). Diese Befunde lassen sich mit den Ergebnissen aus Isotopenversuchen in Einklang bringen. Es wurde gezeigt, daß Methylxanthine (NAYLER, 1963; GUTHRIE u. NAYLER, 1967; SCHOLZ, 1971 a) wie Adrenalin (REUTER, 1967) die ^{45}Ca -Aufnahme und -Abgabe in die bzw. aus der Herzmuskelzelle beschleunigen, ohne jedoch die enzyklische Markierbarkeit des cellulären Ca und den Gesamt-Ca-Gehalt der Präparate zu verändern (SCHOLZ, 1971 a). Daraus wurde geschlossen, daß die Methylxanthine dadurch positiv inotrop wirken, daß sie die Membranpermeabilität für Ca^{++} ernöhen und dadurch zu einer Steigerung des Ca^{++} -Einstroms aus dem ECR und damit zu einer Verringerung der $[\text{Ca}]_i$ führen; eine zusätzliche Beeinflussung intracellulärer Ca-Speicherstellen und damit der intracellulären Ca-Verteilung wurde für wenig wahrscheinlich gehalten (SCHOLZ, 1971 a).

In der vorliegenden Arbeit wurde die Wirkung von Theophyllin auf die ^{45}Ca -Aufnahme an isolierten MeeresschweinchenVorhöfen in Abhängigkeit von der Theophyllinkonzentration untersucht. Dabei interessierte erstens, ob Theophyllin über die oben erwähnte Steigerung des transmembranösen Ca^{++} -Einstroms hinaus auch die intracelluläre Ca-Verteilung beeinflusst. Zusätzlich sollte geprüft werden, ob die bei hohen Theophyllinkonzentrationen auftretende Kontraktur in Zusammenhang steht mit einer Veränderung der intracellulären Ca-Verteilung. Eine mögliche Theophyllinwirkung auf die intracelluläre Ca-Verteilung zugunsten freier kontraktionswirksamer

Ca-Ionen müßte sich in einer Vergrößerung der austauschbaren, d.h. der mit ^{45}Ca markierbaren, intracellulären Ca-Fraktion äußern. Der Markierungsgrad des cellulären Ca wurde durch Messung der ^{45}Ca -Aktivität und des Ca-Gesamtgehalts des Gewebes bestimmt. Gegenüber früheren Versuchen wurde das extracelluläre Calcium nach Beendigung der ^{45}Ca -Inkubation durch Spülen der ruhenden Vorhöfe in inaktiver, Ca- und Na-freier Cholinchloridlösung entfernt.

B. METHODEN

I. Allgemeines

1. Präparate

Die Versuche wurden an isolierten linken Vorhöfen von 250 - 450 g schweren Meerschweinchen beiderlei Geschlechts durchgeführt. Die Tiere wurden bei handelsüblichem Trockenfutter (Altromin) und Leitungswasser ad libitum gehalten. Die Tiere wurden durch Genickschlag getötet und aus den Carotiden entblutet. Anschließend wurden die Herzen möglichst schnell excidiert und bei Zimmertemperatur in carbogengesättigter Tyrodelösung (Lösung 1; s. Tabelle) präpariert. Die linken Vorhöfe wurden an den Vorhof-Kammergrenzen von den Ventrikeln abgetrennt und vollständig von anhängendem Bindegewebe und Gefäßen befreit. Vor Versuchsbeginn wurden die Präparate mindestens 30 min bei elektrischer Reizung (Reizgrößen s.u.) in normaler Tyrodelösung bei 35° C Badtemperatur equilibriert.

	NaCl	KCl	CaCl ₂	MgCl ₂	NaH ₂ PO ₄	NaHCO ₃	Tris-Puffer ^x	Cholin-Cl	Glucose
1. Normale Tyrodelösung	137	5,4	1,8	1,05	0,42	11,9	-	-	5,5
2. Ca-arme Tyrodelösung	137	5,4	0,45	1,05	0,42	11,9	-	-	5,5
3. Spüllösung	-	5,4	-	1,05	-	-	5	146 ^{xx}	5,5

^x Tris(hydroxymethyl)-aminomethan + HCl

^{xx} Lösung 3 enthielt außerdem Atropinsulfat (2×10^{-5} g/ml)

Tabelle 1

Zusammensetzung der Lösungen (mM/l)

2. Lösungen

Die Zusammensetzung der verwendeten Lösungen zeigt Tabelle 1. Die Begasung erfolgte mit Carbogen (95 % O_2 + 5 % CO_2 ; Lösung 1 + 2) bzw. mit 100 % O_2 (Lösung 3). Wenn nicht anders angegeben, betrug die Badtemperatur $35^{\circ}C$ und der pH-Wert der Lösungen 7,4.

3. Substanzen

Als pharmakologisch wirksame Substanz wurde bei den Versuchen Theophyllin (Theophyllin wasserfrei D.A.B. 7, C.H. Boehringer Sohn, Ingelheim, Molekulargewicht 180,17) verwendet. Theophyllin wurde unter vorsichtigem Erwärmen bis $50^{\circ}C$ direkt in der jeweiligen Versuchslösung gelöst.

Als radioaktives Isotop wurde ^{45}Ca verwendet, das als $CaCl_2$ mit einer spezifischen Aktivität von 12,2 - 20,0 mC/mg und in einer Reinheit von 99 % von New England Nuclear (Boston, Mass., U.S.A.) bezogen wurde. Die bezogene Menge (= 3 mC in 0,1 ml 0,5 n HCl) wurde in 50 ml Aqua dest. gelöst. Für die ^{45}Ca -Versuche wurden jeweils 1 ml dieser Lösung der Badlösung (500 ml) hinzupipettiert. Daraus ergab sich eine spezifische Aktivität von 0,12 mC/0,45 mM Ca.

II. Mecnanogramme

Die Präparate wurden mit dünnen Seidenfäden zwischen zwei Reizelektroden befestigt und in 50 ml fassenden Organbädern suspendiert. Die Badlösung konnte innerhalb weniger Sekunden ausgewechselt werden. Die elektrische Reizung erfolgte durch Rechteckimpulse (Grass Reizgerät S 6; Reizdauer 2 msec; doppelte Schwellen-

stromstärke; Frequenz 3 Hz). Die Spannungsentwicklung der Präparate wurde isometrisch über Dehnungsmeßstreifen (Grass IT 03) gemessen und nach Verstärkung auf Direktschreibern (Hellige Helco Scriptor) registriert. Die Vorspannung betrug 1 g.

Während der Versuche wurden die Präparate zunächst 30 min in normaler Tyrodelösung (Lösung 1) und danach für 15 min in Tyrodelösung mit 0,45 mM CaCl_2 belassen, um sich äquilibrieren. Anschließend wurden die zu untersuchenden Theorien-Lösungskonzentrationen zugesetzt und ihre Wirkung über einen Zeitraum von 60 min untersucht. Die Spannungsentwicklung wurde zum gewünschten Zeitpunkt nach Zugabe ausgemessen und mit den unmittelbar vor Gabe der Substanzen erhaltenen Werten verglichen. Bei den Mechanogrammen wurde die systolische Spannung (= Kontraktion), die diastolische Spannung (= Kontraktur) ausgewertet, auf das Feuchtgewicht der Präparate bezogen und in g/g Feuchtgewicht angegeben.

III. Bestimmung der ^{45}Ca -Aufnahme und der Ca -Gesamtkonzentration

Die Versuche wurden an elektrisch gereizten (Reizgrößen s.o.) linken MeerschweinchenVorhöfen durchgeführt. Wie bei den Mechanogrammen wurde Tyrodelösung mit 0,45 mM CaCl_2 verwendet (Badtemperatur 35°C).

1. ^{45}Ca -Aufnahme

Die Versuche wurden in Organbädern durchgeführt, die je 500 ml Versuchslösung enthielten und in welche die mit 1 g vorbelasteten Vorhöfe zwischen Reizelektroden eingehängt werden konnten. Vor dem Aufladen wurden die

Präparate einheitlich für 30 min in normaler Tyrodelösung und danach für 15 min in Ca-armer inaktiver Tyrodelösung schlagend äquilibriert. Anschließend wurden die Präparate für 60 min in ^{45}Ca -haltige Lösung ohne oder mit Theopnyllin umgehängt.

Am Ende der Aufladepériode wurde das extracelluläre Ca mit größter Sorgfalt entfernt. Zunächst wurden die Präparate dreimal für einige Sekunden in inaktive Lösung getaucht, um oberflächlich anhaftende Aktivitätsanteile zu entfernen. Danach wurden die Präparate bei Zimmertemperatur runera 5 x 5 min in je 400 ml Na- und Ca-freier Cholinchloridlösung (s. Tabelle 1) gespült, welche mit 100 % O_2 begast wurde. Unter diesen Bedingungen ist der Verlust an intracellulärem Ca gering (RAUFER u. SEITZ, 1968; GLITSCH, REUTER u. SCHOLZ, 1970).

Nach Versuchsende wurden die Präparate standardisiert ausgepreßt (1,5 min zwischen Blauband-Filterpapier; Belastung 300 g). Die abgepreßten Vorhöfe wurden in vorgewogene Glasröhrchen gegeben und die Feuchtgewichte bestimmt. In einem stufenweise aufheizbaren Aluminiumblock wurden die Präparate nach Zugabe von je 0,4 ml "Säuregemisch" (konz. HNO_3 + HClO_4 70 % im Verhältnis 1:1) bei Temperaturen bis zu 240°C feucht verasert. Die Veraschungsrückstände wurden bei ca. 80°C in 1 ml 0,1 n HCl gelöst und die so erhaltene Lösung nach Abkühlen mit 2 ml abs. Äthanol verdünnt.

Zur Aktivitätsmessung (in einem Eckard Tricarb-Flüssigkeits-Szintillationszähler; Meßdauer 5 min) wurden 0,5 ml dieser Lösung zu 10 ml eines Bray-Szintillationsgemisches (0,2 g Dimethyl-POPOP^x; 4,0 g PPO^{xx}; 60,0

^x 1,4 bis 2-(4-Methyl-5-Phenyloxazolyl)-Benzol

^{xx} 2,5-Diphenyloxazol (Szintillation Grade)

g Naphthalin; 100 ml Methanol; 20 ml Athylenglycol; ad 1 000 ml Dioxan) gegeben, der Rest wurde zur Ca-Konzentrationsmessung (s.u.) weiterverarbeitet.

Die ^{45}Ca -Aktivität der Proben wurde in Zerfällen/Minute (Dpm) bestimmt. Der Löscheffekt wurde nach der Kanalverhältnismethode mit einem externen Standard ermittelt. Aus fünf Leerwertproben wurde bei jeder Versuchsserie der Nulleffekt bestimmt. Die in den Ansätzen gemessene ^{45}Ca -Aktivität wurde nach Nulleffektkorrektur auf eine Standardaktivität der Tyrodelösung von 10^4 Dpm/0,1 ml, auf das Feuchtgewicht (Dpm/100 mg FG) sowie auf den Ca-Gehalt der Präparate bezogen (Dpm/100 nÄ Ca = spezifische Aktivität des Gewebes). Die auf diese Weise errechnete spezifische intracelluläre Aktivität wurde in Beziehung zur spezifischen Aktivität der Tyrodelösung (= extracelluläre spezifische Aktivität) gesetzt. Der Quotient intracelluläre spezifische Aktivität x 100/ extracelluläre Aktivität (= relative spezifische Aktivität) ist ein Maß für den Markierungsgrad des cellulären Ca^{++} (KLAUS u. KUSCHINSKY, 1962; GROSSMAN u. FURCHGOTT, 1964 a-c; REUTER, 1965).

2. Bestimmung der Ca-Gesamtkonzentration

Zur Bestimmung der Ca-Konzentration im Gewebe wurde der nicht zur Aktivitätsmessung verwendete Rest (2,5 ml) des gelösten Veraschungsrückstandes bei 80°C vorsichtig eingedampft. Zu den Proben wurden 2,5 ml 1 % LaCl_3 -Lösung (10 g LaCl_3 gelöst in 1 l 0,1 n HCl) zupipetiert. Außerdem wurde zu jeder Versuchsserie eine Eichkurve ermittelt, die 0,02 - 0,25 $\mu\text{Ä Ca}$ /2,5 ml Ansatz enthielt.

Die Ca-Proben wurden mit einem Atom-Absorption-Spectrophotometer (Perkin-Elmer 403) gemessen. Zuerst wurde die Absorption der einzelnen Eichkurvenwerte bestimmt

und in ein Koordinatensystem eingetragen. In dieser Kurve konnte nun nach Messung der Absorption einer Versuchssprobe deren entsprechender Wert in $\mu\text{Ä Ca}/ 2,5 \text{ ml}$ Ansatz abgelesen und nach Umrechnung in $\text{nÄ Ca}/ 100 \text{ mg}$ FG angegeben werden.

IV. Statistische Bearbeitung der Versuchsergebnisse

Aus den zusammengehörigen Einzelwerten (N) innerhalb einer Versuchsserie wurde das arithmetische Mittel ($\bar{x}$) und der zugehörige Standardfehler des Mittelwertes ($s_{\bar{x}}$) berechnet. Die gefundenen Mittelwerte wurden durch den t-Test für Mittelwertsvergleiche auf Signifikanz überprüft. Dazu wurden die ermittelten Werte in die folgende Formel eingesetzt:

$$\text{Testgröße } t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2 + s_2^2}{N_1 + N_2 - 2} \cdot \frac{N_1 + N_2}{N_1 \cdot N_2}}}$$

$$\text{mit : } \bar{x} = \frac{1}{N} \cdot \sum_{i=1}^N x_i$$

$$s^2 = \sum_{i=1}^N x_i^2 - \frac{1}{N} \cdot \left(\sum_{i=1}^N x_i \right)^2$$

N_1 = Umfang von Stichprobe 1

N_2 = Umfang von Stichprobe 2

Als Grenze für einen signifikanten Unterschied wurde in Übereinstimmung mit der einschlägigen Literatur ein P-Wert von 0,05 angesehen. P-Werte über 0,05 galten als statistisch nicht signifikant (n.s.).

C. ERGEBNISSE

1. Mechanogramme in Ca-ärmer Tyrodelösung

Bei allen Versuchen wurde eine Ca-arme Tyrodelösung verwendet, da die positiv inotrope Wirkung von Theophyllin bei erniedrigter $[Ca]_e$ relativ größer ist als in normaler Tyrodelösung (SCHOLZ u. DE YAZIKOF, 1971).

Zuerst wurde die Wirkung von Theophyllin auf die Kontraktionskraft isolierter linker MSV bei verschiedenen Theophyllinkonzentrationen nach 60 min Einwirkzeit gemessen. Aus der in Abbildung 1 dargestellten Konzentrationswirkungsbeziehung geht hervor, daß bereits eine Theophyllinkonzentration von 2×10^{-4} g/ml positiv inotrop wirkte. In Übereinstimmung mit anderen Autoren (SCHOLZ, 1970; SCHOLZ u. DE YAZIKOF, 1971) war die positiv inotrope Wirkung bei 5×10^{-4} g/ml Theophyllin maximal. Bei weiterer Erhöhung der Konzentration nahm die positiv inotrope Wirkung wieder ab: $1,2 \times 10^{-2}$ g/ml Theophyllin wirkten noch etwa halbmaximal, während 3×10^{-2} g/ml nur noch schwach positiv inotrop wirkten.

Es zeigte sich außerdem, daß Theophyllin in den Konzentrationen $1,2 \times 10^{-3}$ g/ml und 3×10^{-2} g/ml konzentrationsabhängig zu Kontrakturen führte (Abb. 2). Diese Konzentrationen werden im folgenden auch als "toxische" Konzentrationen bezeichnet. Nach Zugabe von 2×10^{-4} g/ml und 5×10^{-4} g/ml waren zu keiner Zeit Kontrakturen oder Arrhythmien (als Zeichen einer toxischen Wirkung) zu beobachten; diese ausschließlich positiv inotrop wirkenden Konzentrationen werden als "therapeutische" Konzentrationen bezeichnet.

Die Abnahme der positiv inotropen Theophyllinwirkung nach Erhöhung der Konzentration über 5×10^{-4} g/ml

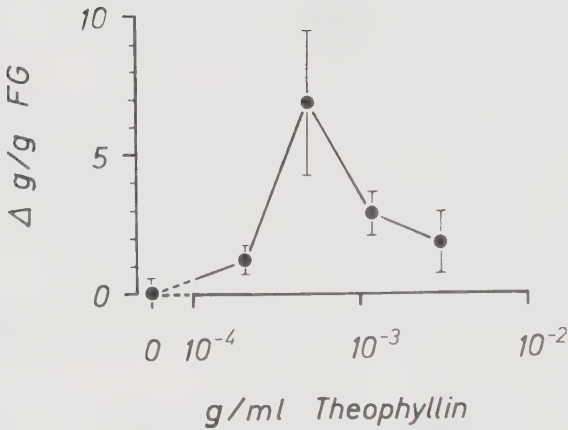


Abb. 1

Wirkung von Theophyllin auf die systolische Spannungsentwicklung (= Kontraktion) elektrisch gereizter linker MSV. Ordinate: Änderung der Kontraktionskraft gegenüber Kontrollen in g/g FG ($\Delta g/g \text{ FG}$), gemessen 60 min nach Zugabe von Theophyllin. Abszisse: Theophyllinkonzentration in g/ml, log. Maßstab. $[Ca]_e$ 0,45 mM. N = 4-6. Ausgangskraft bei Versuchsbeginn $2,61 \pm 0,62$ g/g FG (N = 26).

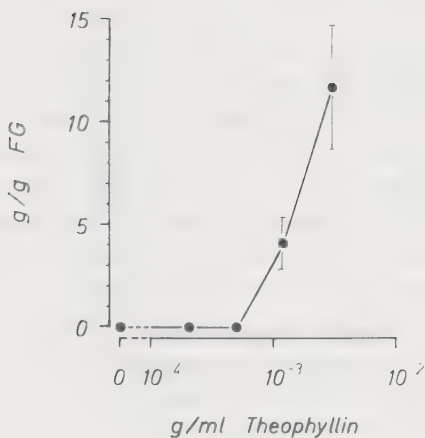


Abb. 2

Wirkung von Theophyllin auf die diastolische Spannungsentwicklung (= Kontraktur) elektrisch gereizter MSV. Ordinate: Diastolische Spannung in g/g FG. Abszisse: Theophyllinkonzentration in g/ml, log. Maßstab. $[Ca]_e$ 0,45 mM. N = 4-6.

Theophyllin hinaus läßt sich in einen ursächlichen Zusammenhang mit der erfolgten Kontraktorentwicklung bringen (Abb. 3). Abbildung 3 zeigt den zeitlichen Verlauf der Theophyllinwirkung bei einer "toxisch" wirkenden Konzentration von $1,2 \times 10^{-2}$ g/ml während 60 min. Die Gesamtverkürzung und die Kontraktion erreichten 5 min nach Theophyllinzugabe ein annähernd gemeinsames Maximum. Bemerkenswert ist, daß bereits zu diesem Zeitpunkt eine geringe Kontraktur feststellbar war. Sie betrug hier 0,28 g/g FG bzw. 4,17 % der Gesamtverkürzung. Hieraus läßt sich erklären, daß der Wert für die Kontraktion um ein geringes niedriger lag als derjenige für die Gesamtverkürzung. Die Gesamtverkürzung fiel nach dem Maximum etwas ab und erreichte nach etwa 10 min ein Gleichgewicht, während die Kontraktion allmählich abnahm, ohne ein Gleichgewicht zu erreichen. Nach 60 min Einwirkzeit von Theophyllin war die Kontraktionskraft nur noch halbmaximal. Gleichzeitig mit der Abnahme der Kontraktionskraft ernöhte sich die diastolische Spannungsentwicklung (= Kontraktur), die nach 60 min 4,12 g/g FG bzw. 48,41 % der Gesamtverkürzung ausmachte.

Abnahme der systolischen Spannungsentwicklung und Zunahme der diastolischen Spannungsentwicklung verliefen bei unveränderter Gesamtspannung also etwa parallel. Daraus läßt sich schließen, daß die Abnahme der positiv inotropen Theophyllinwirkung bei Einwirkzeiten zwischen 10 und 60 min mit der sich gleichzeitig entwickelnden Kontraktur zu erklären ist.

2. ^{45}Ca -Aufnahme und Ca-Gesamtkonzentration

Die ^{45}Ca -Aufnahmemessungen wurden ebenfalls mit "therapeutischen" und "toxischen" Theophyllinkonzentrationen von 2×10^{-4} bis 3×10^{-3} g/ml durchgeführt. Wie bei den Mechanogrammen betrug die Theophyllin-Einwirkzeit

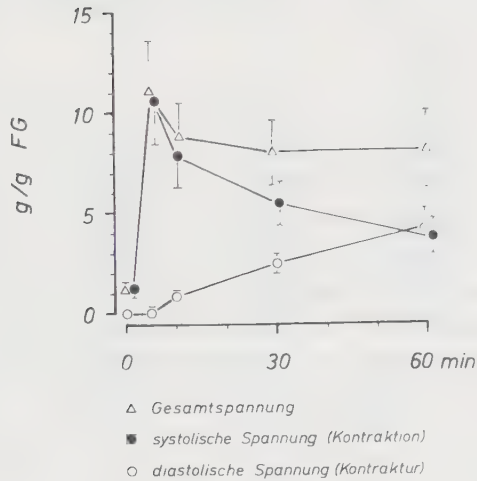


Abb. 3

Zeitlicher Verlauf der Wirkung von Theophyllin ($1,2 \times 10^{-3}$ g/ml) auf die Spannungsentwicklung schlagender linker MSV. Ordinate: Kontraktionskraft in g/g FG. Abszisse: Zeit nach Theophyllinzugabe in min. N = 4-6. $[Ca]_e$ 0,45 mM.

60 min. Die ^{45}Ca -Aufnahme (Dpm/100 mg FG) in schlagende MSV wurde gegenüber den Kontrollen nach 60 min Aufladezeit durch Theophyllin in den Konzentrationen 5×10^{-4} g/ml, $1,2 \times 10^{-3}$ g/ml und 3×10^{-3} g/ml geringfügig erhöht und durch 2×10^{-4} g/ml Theophyllin etwas erniedrigt. Diese Veränderungen waren in keinem Falle signifikant (Abb. 4).

Die Ca-Gesamtkonzentration im Gewebe ($[\text{Ca}]_G$) war bei den mit Theophyllin behandelten Vorhöfen insgesamt etwas niedriger als bei den Kontrollen, wobei dieser Unterschied allerdings nur bei der Konzentration 5×10^{-4} g/ml signifikant war (Abb. 5). Die Werte der $[\text{Ca}]_G$ wurden der Berechnung der spezifischen ^{45}Ca -Aktivität im Vorhofspräparat zugrunde gelegt. Die spezifische Aktivität des Gewebes wurde ausgedrückt in Dpm/100 nA Ca und in Abbildung 6 dargestellt. Es zeigte sich, daß nach 60 min Aufladezeit die spezifische Aktivität unter dem Einfluß von 2×10^{-4} g/ml Theophyllin gegenüber den Kontrollen unverändert blieb, nach Zugabe von 5×10^{-4} g/ml, $1,2 \times 10^{-3}$ g/ml und 3×10^{-3} g/ml Theophyllin wurde die spezifische Aktivität gegenüber den Kontrollen jedoch signifikant gesteigert. Die Zunahme betrug für 5×10^{-4} g/ml 48,8 %, für $1,2 \times 10^{-3}$ g/ml 36,0 % und für 3×10^{-3} g/ml 30,7 % der Kontrollen.

Ein wesentliches Maß für den Markierungsgrad des intracellulären Calciums mit radioaktivem Ca ist die relative spezifische Aktivität in %, d.h. das prozentuale Verhältnis von spezifischer Aktivität des intracellulären Ca^{++} zur spezifischen Aktivität des extracellulären Ca^{++} . Die relative spezifische Aktivität, die bei den Kontrollen etwa 36 % betrug, wurde durch jede Theophyllinkonzentration gegenüber den Kontrollwerten erhöht (Abb. 7), wobei diese Steigerung bei einer Konzentration von 2×10^{-4} g/ml jedoch nur minimal und nicht

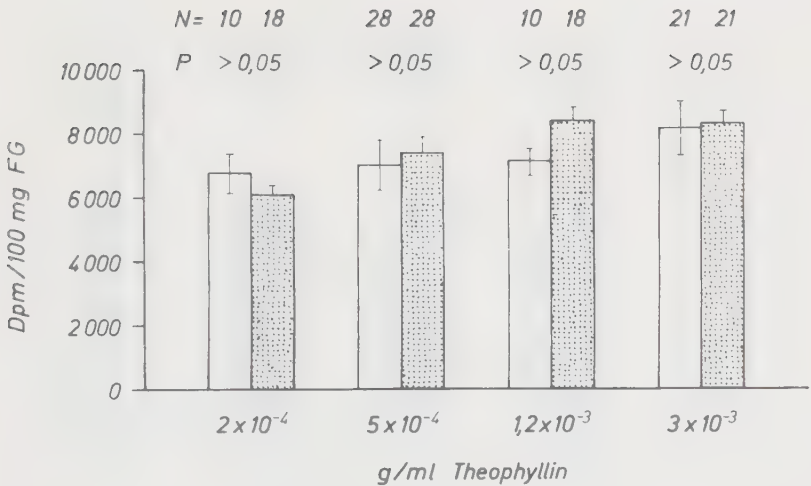


Abb. 4

^{45}Ca -Aufnahme in schlagende MSV bezogen auf das Feuchtgewicht der Präparate (Ordinate: Dpm/100 mg FG) unter Kontrollbedingungen (helle Säulen) und in Gegenwart verschiedener Theophyllinkonzentrationen (getönte Säulen; Grundlinie). Inkubationszeit in aktiver Tyrodelösung ($[\text{Ca}]_e$ 0,45 mM) 60 min.

Über den Säulen sind die zugehörigen P-Werte sowie die jeweils verwendete Anzahl der Präparate ($N = 10 - 28$) angegeben. Vor dem Aufladen wurden die Vorhöfe einheitlich für 30 min schlagend in inaktiver normaler Tyrodelösung ohne Theophyllin sowie anschließend für 15 min in inaktiver theophyllinfreier Tyrodelösung mit 0,45 mM CaCl_2 äquilibriert.

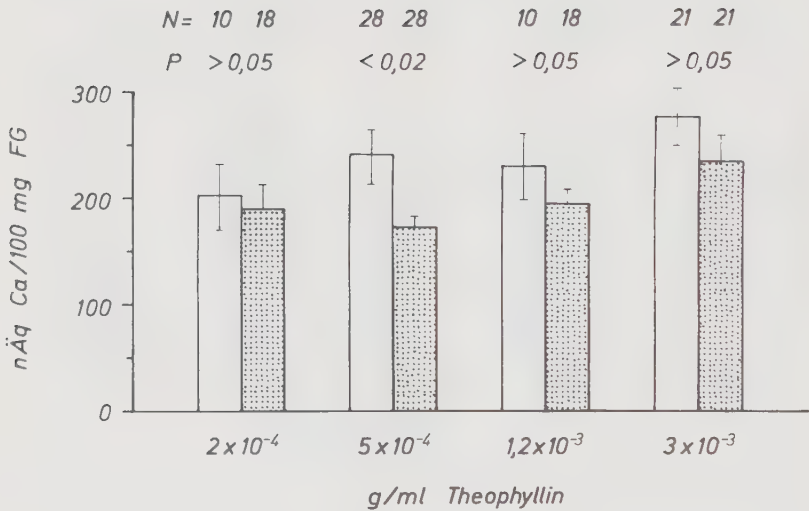


Abb. 5

Ca-Gesamtgehalt (Ordinate: nÄq/100 mg FG) von schlagenden MSV in Abhängigkeit von der Theophyllinkonzentration (Grundlinie) nach 60 min Einwirkzeit in aktiver Tyrodelösung unter Kontrollbedingungen (helle Säulen) und in Gegenwart von Theophyllin (getönte Säulen). $[Ca]_e$ 0,45 mM. Gleiche Versuche wie in Abbildung 4.

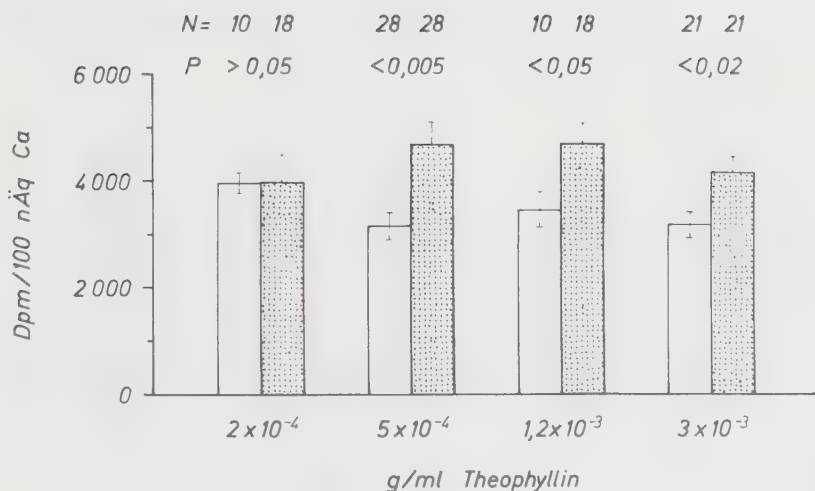


Abb. 6

^{45}Ca -Aufnahme in schlagene MSV bezogen auf die Ca-Konzentration im Gewebe ($\text{Dpm}/100 \text{ nÄq Ca}$ = spezifische Aktivität; Ordinate) gemessen nach 60 min Inkubationszeit unter Kontrollbedingungen (helle Säulen) und in Gegenwart verschiedener Theophyllinkonzentrationen (Grundlinie; getönte Säulen). $[\text{Ca}]_e$ 0,45 mM. Gleiche Versuche wie in Abbildung 4 und 5.

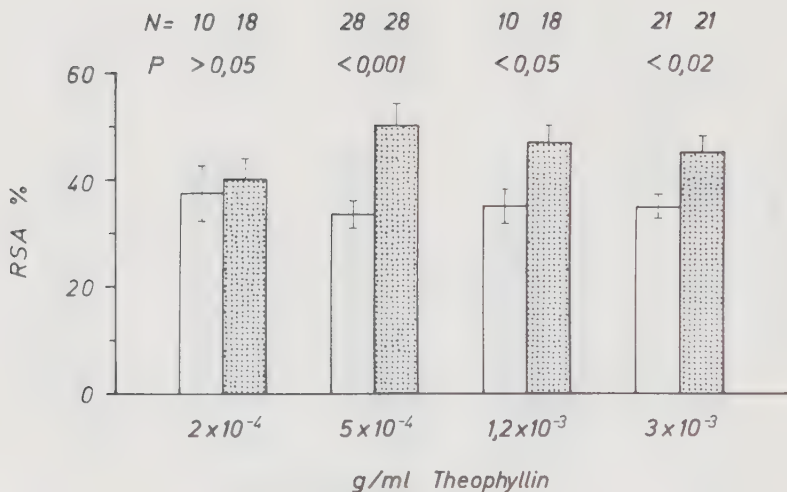


Abb. 7

Relative spezifische Aktivität (RSA in %; Ordinate) bei schlagenden MSV gemessen nach 60 min Aufenthalt in aktiver Tyrodelösung ($[Ca]_e$ 0,45 mM) unter Kontrollbedingungen (helle Säulen) und in Gegenwart verschiedener Theophyllinkonzentrationen (Grundlinie; getönte Säulen). Gleiche Versuche wie in Abbildung 4, 5 und 6.

signifikant war. Bei den höheren Theophyllinkonzentrationen waren die Unterschiede zwischen den Kontrollen und den mit Theophyllin behandelten Vorhöfen signifikant. Die durch Theophyllin bewirkte Zunahme der RSA betrug bei 5×10^{-4} g/ml 16,9 %, bei $1,2 \times 10^{-3}$ g/ml 11,7 % und bei 3×10^{-3} g/ml 10,3 %.

D. DISKUSSION

Aus den Ergebnissen vorausgehender Untersuchungen war geschlossen worden, daß Theophyllin den Ca-Stoffwechsel des Herzens beeinflußt und daß die positiv inotrope Wirkung der Substanz hauptsächlich dadurch zustande kommt, daß Theophyllin während der Erregung den Einstrom von Ca^{++} aus dem ECR steigert (Lit. s. Einleitung). Eisner blieb die Frage offen, ob bei der positiv inotropen Wirkung von Theophyllin zusätzlich auch die intracelluläre Ca-Verteilung geändert wird. Deshalb wurde in der vorliegenden Arbeit die Wirkung von Theophyllin auf die Größe der mit ^{45}Ca markierbaren cellulären Ca-Fraktion in Abhängigkeit von der Konzentration untersucht.

In früheren Untersuchungen mit ^{45}Ca über die Wirkung von Theophyllin am Warmblüterherzen (SCHOLZ, 1970, 1971 a) wurde gezeigt, daß sowohl bei den Kontrollvorhöfen als auch bei den mit Theophyllin behandelten Präparaten die Aktivitätsaufnahme nach 60 min ein Gleichgewicht erreichte. Auch in der vorliegenden Untersuchung wurden die Präparate 60 min mit ^{45}Ca inkubiert, um ein Gleichgewicht in der Aktivitätsaufnahme zu erreichen; denn nur unter dieser Bedingung ist eine Aussage über die Größe der mit ^{45}Ca markierbaren intracellulären Ca-Fraktion möglich.

Die wesentlichste Wirkung der verwendeten Theophyllinkonzentrationen 5×10^{-4} g/ml (therapeutische Kon-

zentration) sowie $1,2 \times 10^{-3}$ g/ml und 3×10^{-3} g/ml (toxische Konzentrationen) bestand in einer signifikanten Steigerung der relativen spezifischen Aktivität gegenüber den Kontrollen, welche allerdings nicht konzentrationsabhängig war. In einer Konzentration von 2×10^{-4} g/ml veränderte Theophyllin die RSA nicht.

Unter der Voraussetzung, daß nach 60 min Inkubationszeit die endgültige Markierbarkeit des intracellulären Ca mit ^{45}Ca erreicht war, kann aus den Befunden geschlossen werden, daß Theophyllin in Konzentrationen ab 5×10^{-4} g/ml ($= 2,8 \times 10^{-3}$ M) am MSV die Größe der mit ^{45}Ca markierbaren und damit austauschbaren Ca-Fraktion in der Muskelzelle erhöht. Als Ursache für diese Theophyllinwirkung scheidet eine Zunahme der Ca-Gesamtkonzentration aus, die bei keiner der verwendeten Konzentrationen festgestellt werden konnte. Eher war eine Abnahme der intracellulären Ca-Konzentration zu beobachten. Deshalb muß aus den Befunden geschlossen werden, daß Theophyllin einen direkten oder indirekten Einfluß auf die intracelluläre Ca-Verteilung hat.

Nach früheren Untersuchungen mit radioaktiv markiertem Ca lassen sich in der Herzmuskelzelle mehrere Ca-Fractionen unterscheiden (Lit. s. KLAUS u. KUSCHINSKY, 1962 sowie KLAUS, 1963):

1. eine nicht austauschende, fest an die Strukturproteine gebundene Fraktion;
2. eine leicht austauschende Fraktion;
3. eine labile Fraktion, die bei Erregung mit dem extracellulären Ca austauscht.

Diese labile Fraktion ist im wesentlichen in den Vesikeln des SR und den Mitochondrien reversibel gebunden.

Unter Ruhebedingungen besteht ein Gleichgewicht zwischen den extracellulären und den intracellulären Ca-Ionen. Bei Ablauf einer Erregung erfolgt eine Überführung von Ca aus der labil gebundenen Fraktion in die ungebundene Form, welche dann am Ca-Austausch teilnehmen kann.

Dadurch wird die intracelluläre Konzentration an ionisiertem Ca erhöht und es kommt zur Auslösung einer Kontraktion. Unter Kontrollbedingungen nimmt nur ein Teil des cellulären Ca am Ruhe- und Erregungsaustausch teil, da der größte Teil des cellulären Ca in gebundener Form vorliegt. Die Zunahme der RSA unter dem Einfluß von Theophyllin bedeutet nun, daß Theophyllin auch normalerweise gebundenes Ca mobilisiert, das nun ebenfalls mit ^{45}Ca austauschen kann. Es kommt also nach Theophyllingabe zu einer Verschiebung des Gleichgewichts zwischen den verschiedenen intracellulären Ca-Fractionen zugunsten des freisetzbaren myoplasmatischen Ca, d.h. zu einer Zunahme der intracellulären Konzentration an freiem Ca während der Erregung und damit zu einer Zunahme der Kontraktionskraft. Somit scheint sich Theophyllin ähnlich wie die Herzglykoside zu verhalten. Auch bei diesen Substanzen wurde eine Erhöhung der austauschbaren Ca-Fraktion gefunden (KLAUS u. KUSCHINSKY, 1962; KLAUS, 1963).

Noch ungeklärt ist die Frage, über welchen Mechanismus Theophyllin seinen Einfluß auf die celluläre Ca-Verteilung ausüben kann. Eine mögliche Ursache der intracellulären Ca-Verschiebung wäre die direkte Wirkung auf intracelluläre Bindungsstellen. Dabei könnte Theophyllin entweder (1.) eine vermehrte Freisetzung von ionisiertem Ca aus intracellulären Ca-Bindungsstellen oder aber (2.) eine Hemmung der Ca-Aufnahme in diese Strukturen bewirken.

Daß es zur Freisetzung von Ca aus dem SR und den Mitochondrien bzw. zu einer Hemmung der Ca-Aufnahme in diese Strukturen nach dem Einwirken von Methylxanthinen kommt, wurde von verschiedenen Autoren mit In-Vitro-Versuchen an subcellulären Strukturen (SR, Mitochondrien) aus Herz- und Skelettmuskelpräparaten nachgewiesen (NAYLER u. HASKER, 1966; CARVALHO u. LEO, 1967; WEBER, 1968; WEBER u. HERZ, 1968; FUCHS, 1969; JOHNSON u. INESI,

1969; PRETORIUS et al., 1969). Wenn auch die von diesen Autoren erhobenen Befunde teilweise mit bereits toxischen Konzentrationen erzielt wurden, so stehen sie doch mit den von uns gefundenen in Einklang. Zusammenfassend darf man deshalb annehmen, daß folgender Mechanismus bei der positiv inotropen Wirkung von Theophyllin zumindest beteiligt ist: Findet unter Kontrollbedingungen eine Erregung der Herzmuskelzelle statt, so werden Ca-Ionen aus intracellulären Speicherstellen freigesetzt. Dadurch wird die intracelluläre Konzentration an freien Ca-Ionen erhöht und es kommt zur Auslösung einer Kontraktion. Nach Ablauf eines Erregungsprozesses wird die intracelluläre Konzentration an kontraktionswirksamen Ca-Ionen wieder auf den Wert erniedrigt, der im Ruhezustand vorliegt. Hierfür dürften zwei Faktoren eine Rolle spielen; einerseits der Ausstrom von Ca-Ionen aus der Zelle und andererseits die aktive Ca-Rückbindung in intracelluläre Bindungsstellen. Wenn nun Theophyllin die Freisetzbarkeit von Ca^{++} aus dem SR oder den Mitochondrien erhöht, so stellt sich ein höheres Niveau an kontraktionswirksamen Ca-Ionen in der Zelle ein, wodurch wiederum eine Steigerung der Kontraktionskraft des Herzmuskels ermöglicht wird. Denn die Kontraktionskraft des Herzens wird nicht allein durch die aus dem ECR einströmenden Ca-Ionen bestimmt, sondern auch durch die Menge kontraktionswirksamer Ca-Ionen, die bereits vor Kontraktionsbeginn in der Zelle vorhanden sind (WOOD et al., 1969).

Ein Hinweis dafür, daß die Methylxantnine einen Einfluß auf die intracelluläre Ca-Verteilung haben, ist auch die bei höheren Konzentrationen auftretende Kontraktur (NAYLER, 1963; PRICE u. NAYLER, 1967; SCHOLZ u. DE YALIKOF, 1971; vorliegende Arbeit). Steigt nämlich nach dem oben genannten Mechanismus die Konzentration an freien Ca-Ionen so stark an, daß auch während der Diastole der Wert von 10^{-5} - 10^{-7} M überschritten wird, so kann

das Myokard durch das erhöhte Angebot an Ca-Ionen nicht vollständig erschlaffen und es bleibt ein Kontraktionsrückstand bestehen. Daß diesem Mechanismus eine wesentliche Bedeutung für die Entstehung von Methylxanthin-Kontrakturen zukommt, wird durch die nur geringe Kontrakturentwicklung am Froschherzen gestützt, bei dem das Ca-speichernde SR relativ schwach ausgebildet ist (FUJINO u. FUJINO, 1964). Unterstützt wird diese Hypothese außerdem dadurch, daß die durch Xanthinderivate bewirkte Kontraktur durch Erniedrigung der Temperatur gesteigert wird (PRICE u. NAYLER, 1967; BECHTOLD u. SCHOLZ, 1971).

Die Zunahme der Markierbarkeit des cellulären Ca mit ^{45}Ca steht im Widerspruch zu den Ergebnissen früherer Untersuchungen, in denen unter dem Einfluß von 5×10^{-4} g/ml Theophyllin keine Veränderung der RSA gefunden wurde (SCHOLZ, 1971 a). Es bleibt offen, ob die modifizierte Versuchsdurchführung zu den widersprüchlichen Ergebnissen geführt hat. In der vorliegenden Untersuchung wurden die Präparate nach dem Aufladen gespült. Dieser Spülvorgang beeinflusst möglicherweise in unspezifischer Weise die intracelluläre Ca-Verteilung. Dafür könnte sprechen, daß die Effekte in der vorliegenden Arbeit nicht konzentrationsabhängig waren.

Um zweifelsfrei entscheiden zu können, ob Theophyllin im therapeutischen Konzentrationsbereich über die Steigerung des Ca^{++} -Einstroms aus dem ECR hinaus tatsächlich auch durch eine direkte Wirkung auf intracelluläre Strukturen die Austauschbarkeit des cellulären Calciums steigert, sind also weitere Untersuchungen erforderlich.

E. ZUSAMMENFASSUNG

An isolierten, elektrisch gereizten linken MSV wurde durch Isotopenversuche mit radioaktiv markiertem Ca (^{45}Ca) die Wirkung von Theophyllin in verschiedener

Konzentration auf die Markierbarkeit des cellulären myokardialen Calciums untersucht. Dazu wurden die Präparate 60 min in ^{45}Ca -haltiger Lösung inkubiert und sowohl die Aktivitätsaufnahme als auch die intracelluläre Ca-Konzentration bestimmt. Im Gegensatz zu früheren Untersuchungen wurde das extracelluläre Ca nach der Aufladung mit ^{45}Ca durch Spülen der ruhenden Vorhöfe in inaktiver, Ca^{++} - und Na^{+} -freier Cholinchloridlösung entfernt.

Unter Kontrollbedingungen ergab sich eine Markierung des cellulären Ca mit ^{45}Ca von etwa 36 %.

Theophyllin führte in "therapeutischer" Konzentration (5×10^{-4} g/ml) gegenüber den Kontrollen zu einer signifikanten Steigerung der markierbaren Ca-Fraktion um 16,9 %. Auch "toxische" Theophyllinkonzentrationen bewirkten eine signifikante Mehraufnahme von ^{45}Ca . Die austauschbare celluläre Ca-Fraktion nahm dabei im Vergleich zu den unbehandelten Präparaten um 11,7 % ($1,2 \times 10^{-3}$ g/ml) bzw. 10,3 % (3×10^{-3} g/ml) zu.

Die Ergebnisse werden im Zusammenhang mit bereits vorliegenden Befunden über den Einfluß von Metnylxanthinen auf den Ca-Stoffwechsel des Herzens diskutiert. Es wird angenommen, daß bei der positiv inotropen Theophyllinwirkung und bei der Theophyllinkontraktur eine Verschiebung der intracellulären Ca-Verteilung zugunsten von ionisiertem Ca eine Rolle spielt, die durch eine Hemmung der Ca-Rückbindung in intracelluläre Ca-Speicherstellen oder eine Freisetzung von Ca aus diesen Strukturen erklärt werden kann.

F. LITERATURVERZEICHNIS

AXELSSON, J. and S. THESLEFF:

Activation of the contractile mechanism in striated muscle.

Acta physiol. scand. 44, 55-66 (1958)

BECHTOLD, H. und H. SCHOLZ:

The influence of changes in temperature on the inotropic actions of theophylline and adrenaline in mammalian cardiac muscle.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmak. 270 (Suppl.) R 7 (1971)

BIANCHI, C.P.:

The effect of caffeine on radiocalcium movement in frog sartorius.

J. gen. Physiol. 44, 845-858 (1961)

BIANCHI, C.P.:

Pharmacological actions on excitation-contraction coupling in striated muscle.

Fed. Proc. 27, 126-131 (1968)

CARSTEN, M.E. and W.F.H.M. MOMMAERTS:

The accumulation of calcium ions by sarcotubular vesicles.

J. gen. Physiol. 48, 183-197 (1965)

CARVALHO, A.P. and B. LEO:

Effects of ATP on the interaction of Ca^{++} , Mg^{++} , and K^{+} with fragmented sarcoplasmic reticulum isolated from rabbit skeletal muscle.

J. gen. Physiol. 50, 1327-1352 (1967)

EBASHI, S. and M. ENDO:

Calcium ion and muscle contraction.

Progr. Biophys. molec. Biol. 18, 123-183 (1968)

FEINSTEIN, M.B.:

Inhibition of caffeine rigor and radiocalcium movements by local anesthetics in frog sartorius muscle.

J. gen. Physiol. 47, 151-172 (1963)

FRANK, G.B.:

Utilization of bound calcium in the action of caffeine and multivalent cations on skeletal muscle.

J. Physiol. (Lond.) 163, 254-268 (1962)

FUCHS, F.:

Inhibition of sarcotubular calcium transport by caffeine: species and temperature dependence.

Biochim. Biophys. Acta (Amst.) 172, 566-570 (1969)

FUJINO, M. and S. FUJINO:

Die Beziehung zwischen Coffein Kontraktur und Calcium am Froschskelettmuskel.

Pflügers Arch. ges. Physiol. 278, 478-486 (1964)

GLITSCH, H.G., H. REUTER and H. SCHOLZ:

The effect of the internal sodium concentration on calcium fluxes in isolated guinea-pig auricles.

J. Physiol. (Lond.) 209, 25-43 (1970)

GROSSMANN, A. and R.F. FURCHGOTT:

The effects of external calcium concentration on the distribution and exchange of calcium in resting and beating guinea-pig auricles.

J. Pharmacol. exp. Ther. 143, 107-119 (1964 a)

GROSSMANN, A. and R.F. FURCHGOTT:

The effects of frequency of stimulation and calcium concentration on Ca^{45} exchange and contractility on the isolated guinea-pig auricle.

J. Pharmacol. exp. Ther. 143, 120-130 (1964 b)

GROSSMANN, A. and R.F. FURCHGOTT:

The effect of various drugs on calcium exchange in the isolated guinea-pig left auricle.

J. Pharmacol. exp. Ther. 143, 162-172 (1964 c)

GUTHRIE, J.R. and W.G. NAYLER:

Interaction between caffeine and adenosine on calcium exchangeability in mammalian atria.

Arch. int. Pharmacodyn. 170, 249-255 (1967)

HASSELBACH, W. und H. WEBER:

Die intrazelluläre Regulation der Muskelaktivität.

Naturwissenschaften 52, 121-128 (1965)

ISAACSON, A. and A. SANDOW:

quinidine and caffeine effects on ^{45}Ca movements in frog sartorius muscle.

J. gen. Physiol. 50, 2109-2128 (1967)

JOHNSON, P.N. and G. INESI:

The effect of methylxanthines and local anaesthetics on fragmented sarcoplasmic retikulum.

J. Pharmacol. exp. Ther. 169, 308-314 (1969)

KLAUS, W.:

Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung verschiedener Digitoxinderivate auf die Kontraktionskraft und den Ca-Austausch isolierter MeerschweinchenVorhöfe.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. u. Pharmak. 246, 226-239 (1963)

KLAUS, W. und G. KUSCHINSKY:

Über die Wirkung von Digitoxigenin auf den cellulären Calciumumsatz im Herzmuskelgewebe.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. u. Pharmak. 244, 237-253 (1962)

KUKOVETZ, W.R. und G. PÖCH:

Zum Mechanismus der Herzwirkung von Methylxanthinen. In: Coffein und andere Methylxanthine. Ed. Heim, F. u. H.P.T. Ammon. S. 91-108. Stuttgart-New York: Schattauer Verlag (1969)

LANGER, G.A.:

Ion fluxes in cardiac excitation and contraction and their relation to myocardial contractility. Physiol. Rev. 48, 708-757 (1968)

LÜTTGAU, H.C.:

Nerven- und Muskel-Elektrophysiologie. Fortschr. Zool. 17, 272-312 (1965)

LÜTTGAU, H.C. and H. OETLIKER:

The action of caffeine on the activation of the contractile mechanism. J. Physiol. (Lond.) 194, 51-73 (1968)

WEINERTZ, T. und H. SCHOLZ:

Über den Einfluß von Mangan-Ionen auf die positiv inotrope Wirkung von Adrenalin, Theophyllin und Digitoxigenin an isolierten Meerschweinchenpräparaten. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmak. 265, 131-148 (1969)

NAYLER, W.G.:

The effect of caffeine on cardiac contractile activity and radiocalcium movement. Amer. J. Physiol. 204, 969-974 (1963)

NAYLER, W.G.:

Calcium and other divalent ions in contraction of cardiac muscle. In: Muscle. Ed. Paul, W.M., E.E. Daniel, C.M. Kay and G. Monckton. pp. 167-184. London: Pergamon Press (1965)

NAYLER, W.G.:

Calcium exchange in cardiac muscle: A basic mechanism of drug action.

Amer. Heart J. 73, 379-394 (1967)

NAYLER, W.G. and J.R. HASKER:

Effect of caffeine on calcium in subcellular fractions of cardiac muscle.

Amer. J. Physiol. 211, 950-954 (1966)

PORTZEHL, H., P.C. CALDWELL and J.C. RUEGG:

The dependence of contraction and relaxation of muscle fibres from the crab *Maia squinado* on the internal concentration of free calcium ions.

Biochim. Biophys. Acta (Amst.) 79, 581-591 (1964)

PORTZEHL, H., P. ZAORALEK and J. GAUDIN:

The activation by Ca^{2+} of the ATPase of extracted muscle fibrils with variation of ionic strength, pH and concentration of Mg ATP.

Biochim. Biophys. Acta (Amst.) 189, 440-448 (1969)

PRETORIUS, P.J., W.G. POHL, CH.S. SMITHEEN and G. INESI:

Structural and functional characterization of dog heart microsomes.

Circulat. Res. 25, 487-499 (1969)

PRICE, J.M. and W.G. NAYLER:

Effect of hypothermia on response of isolated rat myocardium to xanthine derivatives.

Arch. int. Pharmacodyn. 166, 390-397 (1967)

REUTER, H.:

Über die Wirkung von Adrenalin auf den cellulären Ca-Umsatz des Meerschweinchenvorhofs.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. u. Pharmak. 251, 401-412 (1965)

REUTER, H.:

The dependence of slow inward current in Purkinje fibres on the extracellular calcium-concentration. J. Physiol. (Lond.) 192, 479-492 (1967)

REUTER, H. and N. SEITZ:

The dependence of calcium efflux from cardiac muscle on temperature and external ion composition. J. Physiol. (Lond.) 195, 451-470 (1968)

ROUGIER, O., G. VASSORT, D. GARNIER, Y.M. GARGOUIL and E. CORABOEUF:

Existence and role of a slow inward current during the frog strial action potential. Pflügers Arch. 308, 91-110 (1969)

SANDOW, A.:

Excitation-contraction coupling in muscular response. Yale J. Biol. Med. 25, 176 (1952)

SANDOW, A.:

Potential of muscular contraction. Arch. Phys. Med. 45, 62-81 (1964)

SANDOW, A.:

Excitation-contraction coupling in skeletal muscle. Pharmacol. Rev. 17, 265-320 (1965)

SCHOLZ, H.:

Die Wirkung von Theophyllin auf den cellulären Ca-Stoffwechsel des Warmblüterherzens. Experientia (Basel) 26, 864-866 (1970)

SCHOLZ, H.:

Über den Mechanismus der positiv inotropen Wirkung von Theophyllin am Warmblüterherzen. II. Wirkung

von Theophyllin auf Aufnahme und Abgabe von ^{45}Ca .
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. 271, 396-409
(1971 a)

SCHOLZ, H.:

Über den Mechanismus der positiv inotropen Wirkung
von Theophyllin am Warmblüterherzen. III. Wirkung
von Theophyllin auf Kontraktion und Ca-abhängige
Membranpotentialänderungen.

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. 271, 410-429
(1971 b)

SCHOLZ, H. und E. DE YAZIKOF:

Über den Mechanismus der positiv inotropen Wirkung
von Theophyllin am Warmblüterherzen. I. Einfluß
der extracellulären Ca-, Na- und K-Konzentration
und von Reserpin.

Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. 271, 374-395
(1971)

SUZUKI, K.:

Studies on the mechanism of the excitation-contrac-
tion coupling in cardiac muscle, with special
reference to the caffeine contracture.

Jap. J. Physiol. 12, 186-199 (1962)

VASSORT, G., O. ROUGIER, D. GARNIER, M.P. SAUVIAT,
E. CORABOEUF and Y.M. GARGOUIL:

Effects of adrenaline on membrane inward currents
during the cardiac action potential.

Pflügers Arch. 309, 70-81 (1969)

WEBER, A.:

The mechanism of the action of caffeine on sarco-
plasmic reticulum.

J. gen. Physiol. 52, 760-772 (1968)

WEBER, A. and R. HERZ:

The relationship between caffeine contracture of intact muscle and the effect of caffeine on reticulum.

J. gen. Physiol. 52, 750-759 (1968)

WOOD, E.H., R.S. HEPPNER and S. WEIDMANN:

Inotropic effects of electric currents. I. Positive and negative effects of constant electric currents or current pulses applied during cardiac action potentials. II. Hypotheses: Calcium movements, excitation-contraction coupling and inotropic effects. Circulat. Res. 24, 409-445 (1969)

LEBENS LAUF

Am 30.5.1945 wurde ich als zweites Kind des Bildhauers Heinrich Sausen und seiner Ehefrau Dorothea, geb. Dreher, in Morbach, Rheinland-Pfalz geboren.

Nach der Volksschule besuchte ich das Max-Planck-Gymnasium in Trier, wo ich am 3.3.1966 die Reifeprüfung ablegte. Anschließend wurde ich zu einem zweijährigen Dienstverhältnis zur Bundeswehr einberufen. Im Sommersemester 1968 nahm ich an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz das Studium der Zahnmedizin auf. Hier bestand ich am 31.3.1969 die naturwissenschaftliche Vorprüfung und am 9.10.1970 die zahnärztliche Vorprüfung. Ich beabsichtige, nach dem Wintersemester 1972/73 das zahnmedizinische Staatsexamen abzulegen.

